Zur Physiologie der Diatomeen.

(III. Mitteilung.)

Über die Notwendigkeit des Natriums für braune Meeresdiatomeen

von

Privatdozent Dr. **Oswald Richter.**

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der k. k. deutschen Universität in Prag. Nr. 124 der zweiten Folge.

(Mit 2 Tabellen und 2 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 14. Oktober 1909.)

Auf der 78. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Stuttgart hatte ich (I, 1906, 280) bereits Gelegenheit, über die Tatsache berichten zu können, daß die farblose Meeresdiatomee *Nitzschia putrida* Benecke (*N. p.* B.) das Na als notwendiges Nährelement braucht (III/IV, 1908/1909, 167/[666], 10).

In den Jahren 1905 und 1906 war es mir auch geglückt (II, 1906 [81], 55), braune Meeresdiatomeen des *Nitzschia*- und *Navicula*-Typus speziesrein, d. h. noch mit Bakterien verunreinigt, auf gewässertem, mit Nährsalzen versehenem sogenannten Mineralsalzagar (M. S. A.) zu ziehen und festzustellen, daß sie bei Versuchen über die direkte Anpassung an verschiedene Kochsalzprozente im Substrat bis auf 1% ClNa gut gediehen und daß das Optimum für ihr Gedeihen um etwa 2% ClNa liegen müsse.

In Anbetracht der Resultate über die Notwendigkeit des Na für die *N. p.* B. schien es nun sehr verlockend, einmal nachzusehen, ob sich etwas Analoges für die braunen Meeresdiatomeen würde feststellen lassen können, denn Impfmaterial hatte ich in Hülle und Fülle.

Es handelte sich hier um Studien mit autotrophen Organismen und um die Frage, ob ein Element aus der Gruppe der Metalle für unsere Diatomeen von größerer Bedeutung sei.

Aus diesen Überlegungen heraus ist sofort zu erkennen, daß der betrübende Umstand, daß ich die braunen Kieselalgen wegen Mangel an Zeit noch immer nicht in absoluter, d. h. bakterienfreier Reinzucht besitze, der Beantwortung der aufgeworfenen Frage nicht im Wege stand. Ich kann somit gleich zur Beschreibung der Versuchsanstellung übergehen, die sich im wesentlichen an die in III, p. 171, und IV, p. [669], 13 beschriebene anschloß.

Zu einem Stammagar von folgender Zusammensetzung:

1000	T.	dest. H_2O,
18	*g*	gewässertes Agar,
0·2		K_2HPO_4 Merck,
0·2		KNO_3 »
0·05		$MgSO_4$ »
Spur		$FeSO_4$ [1]

wurden ClNa, ClK, Cl_2Mg, Cl_2Ca, $MgSO_4$, $NaNO_3$, Na_2SO_4 und in einigen Fällen auch KNO_3 in 1% oder 2% zugesetzt, nachdem sich durch neue Versuche über die optimale Konzentration des ClNa (siehe p. 1340) herausgestellt hatte, daß die *Navicula* auf 1%, die *Nitzschia* auf 2% ClNa besonders gut wächst.

Von der Herstellung isosmotischer Mengen der verwendeten sowie von der Überprüfung anderer Na-Salze konnte ich nach meinen Erfahrungen mit der *N. p.* B. (IV, [669], 13 und [671], 15) füglich absehen.

Über den Versuchsverlauf gibt Tabelle I*a*, über den Versuchseffekt Taf. I Aufschluß.

Ich kann also sofort zur Zusammenfassung der Resultate dieser Serie von Versuchen schreiten.

Es hat sich gezeigt:

1. Daß in Übereinstimmung mit den Erfahrungen an der *Nitzschia putrida* Benecke eine Entwicklung der braunen Meeresdiatomeen nur stattfindet auf jenen Nährböden, zu

[1] Besonders gereinigtes Salz, wie es Molisch bei seinen Untersuchungen über die Ernährung der Pilze verwendete (1892, 106).

denen Na zugesetzt worden war, und zwar erwies sich die Verbindung NaCl am vorteilhaftesten, dann $NaNO_3$.[1] In einzelnen Fällen schien auch eine ganz minimale Entwicklung auf Na_2SO_4 stattgefunden zu haben. Doch wirkte es in Übereinstimmung mit dem Verhalten der *N. p.* B. gegenüber entschieden hemmend.

2. Daß, da in den verwendeten Salzen ClNa, ClK, Cl_2Mg, Cl_2Ca überall das Cl vorhanden ist, die Entwicklung unter diesen Chloriden aber nur auf NaCl eintrat, nur das Na als ausschlaggebend für die Ernährung angesehen werden kann.

Es hat sich somit neuerlich gezeigt, daß Meeresdiatomeen des Na als notwendigen Nährelementes bedürfen.

Zu derselben Zeit, wo die besprochenen Diatomeenversuche in bestem Gange waren, glückte es mir auch, eine grüne Meeresprotococcale aus dem Triester Meerwasser zu isolieren.[2] Ich ließ daher, wie leicht verständlich, die Gelegenheit nicht vorübergehen, um auch die Frage der Notwendigkeit des Na für diese Alge zu überprüfen.

Die Versuchsanstellung war dieselbe wie bei den Diatomeenversuchen, der Versuchsverlauf ist daher unter dem dieser gleichfalls in der Tabelle I, aber sub *b)*, zum Vergleiche wiedergegeben worden. Der Versuchseffekt (Taf. II) war aber ein ganz anderer als bei den Diatomeenversuchen.

Es zeigte sich:

daß unsere Grünalge in allen Eprouvetten mit den genannten Zusätzen gedeiht, in den ClNa-, Cl_2Mg- und $MgSO_4$-Eprouvetten am besten, in anderen, z. B. in $CaCl_2$, relativ schlecht, was aber das Auffallendste war, sie gedieh auch auf dem Mineralsalzagar ohne Zutat. Sie wuchs also ohne Ge-

[1] Daß in Versuch III der Tabelle I*a* die Entwicklung in $NaNO_3$ ausnahmsweise unterblieb, führe ich auf die späte Jahreszeit und die daher herrschende schwache Beleuchtung zurück. $NaNO_3$ ist schon ein mangelhafter Nährboden und nun noch ein zweiter hemmender Faktor dazu! Da ist es wohl kein Wunder, daß sich die geimpfte *Nitzschia* hier nicht entwickeln konnte.

[2] In dem Material befanden sich speziell bei Untersuchung in liquidem Wasser außer kugelförmigen Zellen auch Tetraden und Schwärmerstadien, deren entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang nicht sicher feststeht.

wöhnung an niedere Kochsalzgaben sofort als Süßwasseralge, allerdings schlecht.

Die Grünalge war also nicht an das Vorhandensein des ClNa gebunden, sie gedieh recht gut, ja vortrefflich, wenn die Nährböden nur durch Salzzugaben verschiedener Art den Konzentrationsverhältnissen, wie sie an ihrem natürlichen Standorte vorkommen, möglichst angeglichen werden. Mit anderen Worten:

Für die von mir gezogene Grünalge des Meerwassers ist das ClNa osmotischer, während es für die Meeresdiatomeen Ernährungsfaktor gewesen war.

Dieser wesentliche Unterschied zwischen beiden Algen prägte sich auch in ihrem Verhalten zu verschiedenen Kochsalzgehalten aus.

Die Versuchsanstellung war bei allen derartigen Experimenten — vornehmlich denen des Jahres 1909 — die, daß zu dem oben angeführten Stammagar[1] ClNa in den Prozentsätzen 1, 2, 3, 4, 5 und 6%, beziehungsweise 0·5, 1, 1·5 etc. bis 3% zugegeben wurde.

Den Versuchsverlauf zeigt Tabelle II, die Versuchseffekte sind als Fig. 3 und 6 in den Tafeln I und II wiedergegeben.

Man sieht, daß die braunen Meeresdiatomeen über rund 4% ClNa nicht hinauf und nicht viel unter 0·5% ClNa — Miquel (1892, 95) und Techet (1904, 371) zogen sie bis auf 1%, Versuche mit Prozentsätzen zwischen 0 und 0·5% ClNa hielt ich nicht für notwendig — heruntergehen, während die Grünalge zunächst wohl auf 1 bis 3% zuerst aufkommt und eine üppige Entwicklung aufweist, noch ehe sie sich in höheren Prozentsätzen entwickelt, daß sich dieser Unterschied aber ausgleicht und sie schließlich bis auf 6% ClNa üppig gedeiht. Ich bin überzeugt, daß ich mit 6% hier noch lange nicht die obere Grenze des Gedeihens erreicht habe, zumal wir aus Stange's (1892, 256) Untersuchungen wissen, daß *Chlamydomonas marina* und eine Diatomeengattung des

[1] Nur bei Versuch VIII wagte ich es, Gelatine zu verwenden. Die Algen gediehen aber wegen der gesteigerten Konkurrenz mit den Bakterien sehr schlecht. Von Interesse dürfte noch die Mitteilung sein, daß ich in diesen Kulturen Plasmodien auch bei den braunen Meeresdiatomeen feststellte.

Mittelmeeres noch in einem Salinenwasser gediehen, das durch Abdunsten von 9·4 auf 23% (= 17·8% ClNa) Salzgehalt konzentriert worden war und daß nach den Untersuchungen von A. Richter (1892, 47) mit Süßwasseralgen *Stichococcus* erst auf 15 bis 18% ClNa starb und *Tetraspora explanata* noch auf 16% vegetierte (p. 36). Da mich aber derartige Versuche zu weit vom Thema abgeleitet hätten, begnügte ich mich mit dem für meine Diatomeen jedenfalls völlig abgegrenzten Versuchsraum von 0 bis 6% ClNa.

Die Grünalge gedieh, wie oben (p. 1339) schon erwähnt wurde, in gewissen Fällen ohne langsame Gewöhnung auch auf dem Stammagar, dem also weder ClNa noch ClK etc. in einer erheblicheren Konzentration zugesetzt worden war.

Damit stellt sich aber dieses Versuchsobjekt der Peridinee Küster's (1908, 351), dem *Gymnodinium fucorum* Küst., würdig an die Seite, das sich auch auf ClNa-armen Nährböden ziehen ließ (p. 359), und reiht sich an jene Peridineen an, die Bütschli (zit. nach Oltmanns) sowohl im Salz- als auch im Süßwasser angetroffen hat, und an jene Diatomeen der arktischen Zonen, die Gran (zit. nach Oltmanns) im Schmelzwasser des Eises sah, und übertrifft den *Fucus vesiculosus*, der nach Oltmanns (1905, 180) 0·25% Salzgehalt, und die *Nitzschia putrida* Benecke, die nach meinen Erfahrungen (IV [671], 15) noch 0·3% ClNa für ihr Gedeihen braucht.

Und wenn wir nun den Versuch machen wollen, den prinzipiellen Unterschied im Verhalten der Meeresdiatomeen und der Meeresgrünalge zu erklären — insbesondere was ihre Beziehung zum Na anlangt —, so glaube ich, werden wir in Anbetracht der Tatsache, daß die *N. p.* B. bei der Kultur in Na-armen Nährböden zur Auflösung der Schale schreitet und so die von mir beschriebenen Plasmodien bildet (IV, 1909 [739], 83) wohl am wenigsten fehlgehen, wenn wir uns an die Membran der Algen halten und annehmen, daß das Na von den Meeresdiatomeen für die Ausbildung ihrer Kieselschalen benötigt wird, mit anderen Worten, daß die Membran der Meeresdiatomeen aus einer Na-Si-Verbindung besteht.

Zusammenfassung.

Nachdem der Verfasser festgestellt hatte, daß eine farblose Meeresdiatomee, die *Nitzschia putrida* Benecke (*N. p.* B.), des Na als notwendigen Nährelementes bedarf, erbrachte er in der vorliegenden Arbeit den Beweis, daß auch für in Speziesreinkultur gehaltene braune Meeresdiatomeen des *Nitzschia*- und *Navicula*-Typus das Gleiche gilt: auch für sie ist das Na notwendiges Nährelement.

Zu diesem Nachweise benutzte er ein Mineralsalzagar, zu dem ClNa, ClK, Cl_2Mg, Cl_2Ca, $MgSO_4$, $NaNO_3$, Na_2SO_4 und KNO_3 in 1 oder 2% zugesetzt wurden.

Eine gute Entwicklung war in Übereinstimmung mit den Befunden an der *N. p.* B. nur auf ClNa und $NaNO_3$ zu bemerken. Auf Na_2SO_4 kamen in wenigen Fällen die Diatomeen sehr spärlich auf.

Der Parallelismus zum Verhalten der *N. p.* B. zeigte sich auch bei Versuchen mit verschiedenen Prozentsätzen von ClNa, von denen sich die zwischen 1 und 2% als Optimum herausstellten; 0·5% kann vorläufig als die untere, 4% als die obere Grenze für das Aufkommen der Diatomeen gelten.

Eine gleichfalls in Kultur befindliche Meeresprotococcale bot dem Verfasser Gelegenheit, auch mit ihr analoge Versuche über den ernährungsphysiologischen Wert der Na-Salze anzustellen — mit völlig verschiedenem Ergebnisse, d. h. die Alge kommt auf Agarnährböden mit allen erwähnten Salzen fort, auf ClNa freilich vielfach besser als auf den anderen Verbindungen, auch entwickelt sie sich auf ClNa freiem Agar.

Bezüglich der Anpassung an verschiedene ClNa-Prozentsätze ist gleichfalls ein fundamentaler Unterschied zwischen ihr und den Kieselalgen zu verzeichnen, indem sie ohne vorherige Gewöhnung bis auf 6% ClNa gedeiht.

Es scheinen somit die Meeresdiatomeen, was das Na-Bedürfnis anlangt, eine Ausnahmsstellung unter den Meeresalgen einzunehmen, die der Verfasser durch die von ihm auch früher schon vielfach gestützte Annahme erklärt, die Membran der Meeresdiatomeen sei eine Na-Si-Verbindung.

Benutzte Literatur.

Bütschli O., zitiert nach Oltmanns (180), Protozoa. Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. I.

Gran H. H., zitiert nach Oltmanns (179).

Küster E., Eine kultivierbare Peridinee. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 11 (1908), p. 351.

Miquel P., De la culture artificielle des diatomées. Le diatomist, tome I (1892), p. 95.

Molisch H., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen, eine physiologische Studie. G. Fischer, Jena (1892), p. 106.

Oltmanns Fr., Morphologie und Biologie der Algen. G. Fischer, Jena, Bd. II (1905), p. 180.

Richter A., Über die Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösungen. Flora, 1892, p. 4.

Richter Oswald, I, Über die Physiologie farbloser Diatomeen. Verh. d. Ges. Deutscher Naturf. u. Ärzte. 78. Vers. in Stuttgart (1906), II. Teil, 1. Hälfte, p. 280.

— — II, Zur Physiologie der Diatomeen (I. Mitt.). Sitzb. d. k. Akad. d. W. in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXV (1906), I. Abt., p. [81] 55.

— — III, Über die Notwendigkeit des Natriums für eine farblose Meeresdiatomee. Wiesner-Festschrift, 1908, p. 167.

— — IV, Zur Physiologie der Diatomeen (II. Mitt.). Die Biologie der *Nitzschia putrida* Benecke. Denkschriften d. math.-naturw. Kl. d. k. Akad. d. W. in Wien, Bd. LXXXIV (1909), p. [666] 10.

Stange, Beziehungen zwischen Substratkonzentration, Turgor und Wachstum bei einigen phanerogamen Pflanzen. Bot. Ztg., Jg. 50 (1892), p. 253.

Techet R., Verhalten einiger mariner Algen bei Änderung des Salzgehaltes. Österr. bot. Ztschr., Bd. 54 (1904), p. 313.

Figurenerklärung.

Taf. I. Photographien von Versuchen mit braunen Meeresdiatomeen.

Fig. 1 und 2. Demonstration der Notwendigkeit des Natriums für eine kleine braune Meeresnavicula.
Die in der Tafel angeführten Salze wurden in 1% zugesetzt. Eine Entwicklung der Diatomee war nur in NaCl, $NaNO_3$ und Na_2SO_4 zu bemerken, von denen ihr das NaCl am besten zusagte. Na_2SO_4 erscheint außerordentlich ungünstig für ihr Aufkommen.
Der Versuch wurde nach etwa einmonatiger Dauer photographiert (vgl. Tabelle I*a* und Text p. 1338).

Fig. 3. Versuch über die Wirkung verschiedener Kochsalzkonzentrationen auf eine kleine braune Meeresnitzschia. Man sieht, daß das Optimum für die Entwicklung dieser Alge bei rund 2% gelegen ist. Das Minimum liegt, wie Tabelle II*a* zeigt, bei den braunen Meeresdiatomeen bei rund 0·5%, das Maximum bei 4% ClNa. Der Versuch wurde nach 41-tägiger Dauer photographiert (vgl. Tabelle II*a* und Text p. 1340).

Taf. II. Photographien von Versuchen mit einer Meeresprotococcale.

Fig. 4 und 5. Parallelversuche zu den in Fig. 1 und 2 dargestellten Experimenten.
Die Grünalge entwickelt sich mehr minder gut in allen Eprouvetten, also in allen zugesetzten Salzen, ja sogar auf dem Stammagar. Danach kann für sie das ClNa nicht so sehr als Ernährungs- wie als osmotischer Faktor in Frage kommen.
Der Versuch wurde nach etwa einmonatiger Dauer photographiert (vgl. Tabelle I*b* und Text p. 1339).

Fig. 6. Versuch über den Einfluß verschiedener Kochsalzkonzentrationen.
Nachdem in den ersten Tagen die auf 2 und 3% ClNa geimpften Algen denen auf allen anderen Konzentrationen vorausgeeilt waren, kamen ihnen die der höheren Prozentsätze nach, so daß sich nach etwa 40tägiger Versuchsdauer die Unterschiede in 2 bis 6% völlig ausglichen. Auf 1% ClNa blieben die Algen zurück. Auf 0% ist im vorliegenden Versuche kein Aufkommen zu bemerken gewesen (vgl. Tabelle II*b* und Text p. 1340).